

INNOVATION TECHNOLOGIQUE LILIANE BETTENCOURT

José-Alain SAHEL

Membre de l'Institut (Académie des sciences),
professeur invité au Collège de France

Mots-clés : vision, prothèses visuelles, médecine régénérative

Les cours et séminaires sont disponibles en vidéo sur le site internet du Collège de France (<http://www.college-de-france.fr/site/jose-alain-sahel/course-2015-2016.htm> et http://www.college-de-france.fr/site/jose-alain-sahel/_seminar.htm), ainsi que les colloques « Restauration visuelle : nouvelles stratégies, nouveaux enjeux » (<http://www.college-de-france.fr/site/jose-alain-sahel/symposium-2015-2016.htm>) et « Plasticité corticale lors des atteintes auditives et visuelles » (organisé avec Christine Petit : <http://www.college-de-france.fr/site/christine-petit/symposium-2015-2016.htm>).

ENSEIGNEMENT

COURS ET SÉMINAIRES – VOIR ENCORE. LA RESTAURATION VISUELLE EN PERSPECTIVES

D'origine génétique ou liées au vieillissement, les maladies de la rétine sont responsables, dans les pays « développés », de nombreuses situations de handicap sévère. S'ouvre cependant une ère de progrès diagnostiques et thérapeutiques qui pourraient réduire leur impact.

Prolongeant des décennies de recherche fondamentale en neurosciences, génomique, optique physique, optoélectronique, robotique ou en mathématiques, ces innovations, impliquant des compétences complémentaires, apportent les outils et concepts d'une médecine à la fois plus technologique et plus individualisée.

Une fois leur sécurité et leur efficacité validées, thérapie génique et thérapie cellulaire, prothèses visuelles ou optogénétique, par exemple, seront ciblées après une analyse génétique et phénotypique par des techniques d'exploration morpho-fonctionnelle du tissu restant avec une résolution au niveau cellulaire. Au terme de ces analyses complexes, le dialogue singulier permettra au patient de fonder son difficile choix.

Un colloque commun avec la chaire de Génétique et physiologie cellulaire évoque la plasticité corticale au cours des affections sensorielles, dans la perspective double de leurs compensations réciproques et des stratégies de restauration sensorielle en développement.

Le colloque final envisage certaines voies d'avenir au-delà du cycle annuel : régénération du nerf optique, optimisation de la thérapie génique, nouvelles prothèses, optogénétique, pharmacologie de système, vision neuromorphique ainsi que les instruments publics ou industriels de soutien à l'innovation.

Cours 1 – De la rétine au cerveau

Ce premier cours présente l'organisation du système visuel et la transmission de l'information. Le traitement de l'image commence dans la rétine avec l'absorption de la lumière par les photorécepteurs, et la transmission vers la partie interne de la rétine, le nerf optique et le cerveau. Il existe deux types de photorécepteurs : les bâtonnets qui représentent la majorité des photorécepteurs, soit environ 130 millions dans la rétine humaine, et les cônes qui sont autour de 5 millions. Les bâtonnets sont répartis dans la périphérie de la rétine alors que les cônes sont présents en majorité dans la région centrale de la rétine. Il n'y a pas de photorécepteur dans la zone du nerf optique, ce qui correspond à la tâche aveugle. L'organisation du système visuel inclut un système nocturne et un système diurne. Dans le système nocturne, les bâtonnets vont fonctionner dès la détection d'un photon jusqu'à la lumière des étoiles et un peu au-delà. Ils assurent la vision scotopique (la vision dans l'obscurité), non colorée, comportant une échelle de gris. La vision des cônes est une vision diurne (photopique) très précise qui donne la possibilité de voir à partir de peu de lumière (clair de lune) jusqu'à un maximum, à éviter : la lumière du soleil. La vision en couleurs est aussi assurée par les cônes. Entre le système nocturne et diurne, il existe une vision mésopique. Les cônes et les bâtonnets ajustent le système en permanence à l'intensité de la lumière en temps réel, à la milliseconde. À partir de la rétine commence un traitement très complexe de l'information visuelle : les pigments des photorécepteurs capturent la lumière et la transforment en signal électrique. L'image focalisée sur la rétine est conduite vers les cellules bipolaires et horizontales, puis les cellules ganglionnaires et le cerveau jusqu'au cortex visuel où commence le traitement des fonctions comme l'intensité du signal lumineux, les couleurs, le contraste...

Le cours discute également les bases du substrat neuronal de la rétine, la plasticité et l'adaptation du système visuel, la capacité du système à s'adapter à des lumières très variables, les connections avec d'autres sens comme l'audition et le toucher qui permettent ainsi de traiter l'information visuelle de façon complexe. La vision en couleur, le contraste des couleurs et l'intensité lumineuse, ainsi que certaines illusions visuelles sont également abordés.

Notre vision est une vision pour l'action qui englobe un traitement d'une grande complexité, des mécanismes analytiques, des processus dynamiques, une exploration des mouvements, la reconfiguration et la plasticité du système en permanence, en mettant en jeu des mécanismes conscients, non conscients et construits au cours du temps.

Séminaire 1 – *The first steps in vision: Real and imaginary processes*

Botond Roska

The process leading to a visual percept involves two components. The first, “real” component originates in the retina and the second, “imaginary” component is generated within the brain. These two components interact to form a continuous percept of the visual world.

The retina can be viewed as a parallel image processor that acquires images with its mosaic of photoreceptors, and uses its internal neuronal circuits to compute more than twenty neural representations of the visual world, which are sent to higher brain centers by the axons of the different ganglion cell types. The brain has little or no neuronal access to the retina and therefore can only control its activity via eye motion.

One of the key characteristics of our percept that it is continuous in both space and time. However our eye makes very rapid movements called saccades, making the retinal representations of the visual world discontinuous. Moreover when objects in a scene or movie are rapidly exchanged, we often do not perceive them. Therefore we may have an internal representation, an “imaginary” component of vision, which depend on the neuronal images that the retina sends but with a number of different properties. This internal representation must involve predictions of our brain and is likely closely connected with our memories. Whether this internal representation is localized to a given brain region or is distributed across brain region is currently not understood.

Cours 2 – Explorer la rétine : les enjeux

L’histoire de l’ophtalmologie moderne commence avec la découverte de l’ophtalmoscope par Hermann von Helmholtz en 1851. Cet appareil permet d’examiner avec précision le fond d’œil et d’observer la rétine et ses vaisseaux, la papille optique (tête du nerf optique), la macula. L’examen du fond d’œil a conduit à la description d’un grand nombre de maladies oculaires. Plus tard, la découverte de l’angiographie en fluorescence (qui permet de visualiser les vaisseaux de la rétine et de la choroïde) a ouvert les voies de l’analyse et du traitement de plusieurs maladies de la vision. Ces progrès dans les techniques d’exploration de la rétine ont débouché non seulement sur la description de maladies très fréquentes comme la dégénérescence maculaire liée à l’âge (DMLA), les occlusions veineuses, la rétinopathie diabétique, mais ont aussi conduit à la quantification de la perte neuronale survenue lors de différents processus pathologiques, la corrélation entre la structure de la rétine et sa fonction, l’analyse du stade d’évolution de la maladie et sa corrélation avec des anomalies génétiques pour proposer des cibles thérapeutiques.

Le cours apporte des informations essentielles sur les principes de fonctionnement et les nombreuses opportunités diagnostiques qu’offrent les techniques modernes d’imagerie à haute résolution comme la tomographie par cohérence optique (OCT) et l’optique adaptative. Par exemple, l’optique adaptative permet de visualiser des cônes dans le fond d’œil, les vaisseaux rétinien, la paroi des vaisseaux et le flux sanguin, le nerf optique. On peut ainsi déceler des microhémorragies ou une inflammation autour des vaisseaux. L’imagerie multimodale et l’ensemble des techniques d’exploration de la rétine rendent possible la caractérisation morphologique et fonctionnelle de la maladie. Cette analyse permet non seulement d’établir des corrélations structure/fonction et corrélations phénotype/génotype, mais aussi de déterminer le rythme de

progression de la maladie, et de prendre des décisions thérapeutiques pour une médecine personnalisée.

Nous travaillons actuellement sur le projet HELMHOLTZ qui réunit l'Institut de la Vision et l'Institut Langevin soutenu par l'European Research Council (ERC-Synergy). Ce projet a pour but de développer des technologies d'imagerie ultrasonore et optique non invasives et ultrarapides pour étudier en temps réel la structure et la fonction des cellules de la rétine et de ses vaisseaux, et concevoir des applications en clinique. Ces nouveaux outils permettront de mieux comprendre le fonctionnement rétinien et la découverte de nouvelles stratégies thérapeutiques pour les maladies de la vision (rétinopathies pigmentaires, DMLA, rétinopathie diabétique, occlusions veineuses rétinienne, glaucome, etc.), qui pourraient être étendues à d'autres domaines des neurosciences.

Séminaires 2a et b – Évolution de l'imagerie de la rétine : du fond d'œil à la cellule

Alain Gaudric, Michel Pâques

Les techniques d'imagerie de la rétine ont maintenant plus de 150 ans, et elles ont permis la découverte et l'exploration d'un nouveau pan de la médecine d'alors, l'ophtalmologie. Ces techniques ont lentement évolué jusqu'à il y a 20 ans avec l'avènement de la tomographie de cohérence optique puis de l'optique adaptative. La résolution des images obtenues avoisine maintenant le micron, mais, au-delà des performances techniques, ce sont les structures les plus fines de la rétine qui sont maintenant accessibles. Il suffit de se dire que l'on peut détailler les différentes sous-unités d'une cellule, en l'occurrence le photorécepteur, pour comprendre le degré de précision que l'on obtient maintenant en routine chez l'homme.

Une cellule au repos dans son tissu a en général peu de raisons de se déplacer. En revanche, sous l'effet d'une maladie, ces cellules peuvent être amenées à quitter leur environnement et à se déplacer. C'est le cas en particulier des cellules inflammatoires. La rétine offre la possibilité d'observer une telle dynamique cellulaire dans des maladies comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la cause la plus courante de cécité, ou lors des inflammations de l'œil (les uvéites). Nous avons pu observer directement chez l'homme la mobilité de cellules individuelles en colligeant des images du fond d'œil prises à des intervalles de jours ou de semaines, pour mettre en évidence le lent mais indiscutable déplacement de ces cellules, qui peut permettre de comprendre comment une maladie évolue.

Cours 3 – Physiopathologie des dystrophies rétinienne

Les dystrophies rétinienne regroupent un ensemble très large de maladies génétiques complexes aboutissant de manière séquentielle, avec un rythme et une distribution variables, à la perte de la fonction des bâtonnets (vision nocturne) et/ou des cônes (vision diurne, colorée et centrale). Nous sommes en effet dotés d'un double système visuel qui nous permet en effet de nous adapter à différents niveaux de luminance.

Ces affections sont la conséquence de multiples mutations dont les modes de transmission sont connus de longue date, dominants, récessifs, liés à l'X, mitochondriaux, complexes.

La compréhension de ces maladies, qui était rendue difficile par le caractère extrêmement tardif et rare des études histopathologiques, a beaucoup bénéficié d'analyses de modèles animaux et surtout d'une meilleure connaissance de la physiologie moléculaire de la vision. En effet, l'identification d'abord de la rhodopsine puis des opsines des cônes et de très nombreuses protéines impliquées dans la phototransduction visuelle ainsi que l'analyse de la signalisation au niveau de la rétine depuis les travaux de Ramón y Cajal, de Wald, Hubel et Wiesel, Dowlilng, Werblin, Nathans, entre autres, ont permis de mieux comprendre le codage de l'information dans la rétine et les mécanismes de la phototransduction visuelle, ainsi que la structure des photorécepteurs.

À partir de l'analyse de plusieurs modèles animaux, de nouvelles protéines ont été mises en évidence au sein des segments externes des photorécepteurs, dans des affections strictement rétinienne ou associées à des atteintes cochléaires voire systémiques comme par exemple le syndrome de Usher, ou ceux décrits dans le séminaire suivant.

S'est ainsi élaborée une véritable physiologie/physiopathologie moléculaire permettant de mieux comprendre la maladie. Plusieurs déficits ont été ainsi mis en évidence au niveau du métabolisme de la vitamine A, du renouvellement des segments externes des photorécepteurs, de l'ensemble des étapes de la phototransduction et de l'adaptation visuelle, de la transmission synaptique, l'ensemble permettant aujourd'hui de mieux comprendre et de mieux décrire des assemblages macromoléculaires indispensables à la fonction visuelle.

Ces connaissances ont suscité l'émergence d'approches thérapeutiques novatrices comme la thérapie génique qui sont discutées dans les autres cours.

Séminaire 3 – Dystrophies rétiniennes génétiques : ce que nous apprennent les syndromes rares

Hélène Dollfus

Les dystrophies rétiniennes héréditaires syndromiques se définissent par l'association d'une atteinte ophtalmologique avec des manifestations au niveau d'un ou plusieurs autres organes, constituant un groupe très hétérogène de pathologies sur un plan génétique et biologique. Souvent considérés comme marginaux et anecdotiques, les travaux scientifiques portant sur les syndromes rares comportant des dégénérescences rétiniennes constituent au contraire un domaine très important pour mieux comprendre la physiologie de la rétine et aussi les mécanismes qui conduisent à la mort des cellules de la rétine. Les progrès de la génétique moléculaire notamment en matière de séquençage haut débit et les avancées pour la modélisation *in vitro* ou *in vivo*, voire *in silico*, mettent en lumière des voies biologiques parfois inédites comme étant liées à la physiologie rétinienne pointant potentiellement vers des cibles thérapeutiques.

Diverses catégories de syndromes seront abordées sous l'angle clinique, biologique et physiopathologique. Dans un premier temps sont évoquées les causes de rétinopathies syndromiques liées à des dysfonctions cellulaires très générales, dites ubiquitaires, comme par exemple les voies biologiques liées à la réparation de l'ADN (*i.e.* syndrome de Cockayne) ou au dysfonctionnement d'organelles comme les mitochondries ou encore les lysosomes ou les peroxysomes. Dans un deuxième temps sont abordées des catégories de syndromes que nous qualifierons de sensoriels dans un sens très élargi de ce terme appliqué non seulement aux manifestations cliniques,

mais aussi au niveau cellulaire. L'évocation des syndromes de Usher permettra de comprendre une double atteinte sensorielle clinique, et le groupe en pleine expansion des ciliopathies (*i.e.* syndrome de Bardet-Biedl, syndrome d'Alström) permettra de percevoir l'importance du cil primaire, véritable organelle sensorielle de la cellule.

Ces divers syndromes nous révéleront l'extrême sensibilité de la cellule photoréceptrice à des désordres des voies biologiques ubiquitaires ou à des voies très spécifiques comme les dysfonctions du cil connecteur. Ces syndromes soulignent aussi l'extrême diversité des causes des dystrophies héréditaires de la rétine, mais aussi la nécessité de trouver des thérapies pour surseoir au handicap visuel qui se combine à d'autres handicaps également souvent très sévères.

Cours 4 – Neuroprotection des photorécepteurs à cônes

Au cours des rétinopathies pigmentaires, la séquence des événements liés à des mutations exprimées dans des protéines spécifiques des cellules à bâtonnets, responsables de la vision nocturne, aboutit secondairement à la dégénérescence des cônes, avec comme conséquence la perte de la vision centrale, de la vision des couleurs et de la vision diurne. Il s'agit donc de l'événement principal conduisant à la cécité. Cet événement étant en bonne partie indépendant de la mutation causale, il apparaît logique de cibler une approche thérapeutique sur cette phase d'évolution de la maladie, ce qui pourrait permettre de traiter la majorité des patients, indépendamment de la mutation causale, tout en mettant en œuvre cette approche thérapeutique à des stades plus évolués de l'affection.

Nous avons envisagé plusieurs hypothèses établissant un lien entre dégénérescence des bâtonnets et dégénérescence des cônes. Ces hypothèses ont été testées de manière systématique, ce qui a permis de démontrer par des expérimentations de transplantation puis de co-cultures et de biochimie, l'existence d'une interaction trophique entre cellules à bâtonnets et cellules à cônes.

Cette démonstration a ensuite conduit à une stratégie systématique d'identification des facteurs de survie des cônes, laquelle a permis en 2004 la caractérisation du facteur appelé *rod-derived cone viability factor* (RdCVF). Ce facteur comporte deux variants, par épissage alternatif, correspondant à deux types de fonctions : une fonction anti-oxydante relevant de la famille des thiorédoxines et une fonction trophique par interaction paracrine. Cette famille de facteurs trophiques est appelée *nucleoredoxin-like protein* et comporte deux gènes à ce jour, l'un découvert par notre stratégie de clonage par expression, l'autre *in silico*.

La signalisation sous-jacente, avec la caractérisation récente d'un récepteur pour les interactions trophiques a été élucidée récemment par notre laboratoire démontrant que ce récepteur appelé basigin-1 régule la fonctionnalité d'un transporteur de glucose, GLUT1, et l'entrée de glucose dans la cellule, ainsi que la cascade métabolique appelée glycolyse aérobie.

En parallèle, les injections chez des animaux mutants du facteur RdCVF à des stades de la maladie où les bâtonnets ont dégénéré a conduit à une survie morphologique et surtout fonctionnelle des cônes permettant aujourd'hui d'envisager des pistes thérapeutiques. Nous les mettons en œuvre avec une validation des constructions nécessaires mais aussi du mode de délivrance.

Il sera essentiel au cours de ces essais thérapeutiques, proposés à des stades relativement avancés de la maladie, de déterminer le bénéfice au niveau des cellules photoréceptrices tant par des méthodes morphologiques que par des méthodes fonctionnelles.

Les technologies d'imagerie évoquées dans le cours 2, en particulier l'optique adaptative, devraient permettre un suivi longitudinal de la densité des cônes et de leur morphologie en association avec la tomographie par cohérence optique et des méthodes de traitement des images. Enfin, l'impact fonctionnel sur la vision diurne devrait quant à lui être mesuré (cours 8).

Il est espéré, à partir des travaux expérimentaux réalisés chez l'animal, une prolongation très significative (de plusieurs années) de la survie des cônes retardant la survenue de la cécité.

Séminaire 4a – La signalisation métabolique et redox du gène *nucleoredoxin-like 1* dans la prévention de la cécité

Thierry Lévillard

Les deux types de photorécepteurs, les bâtonnets et les cônes, jouent des rôles distincts et spécialisés dans la vision des vertébrés. Alors que les bâtonnets sont numériquement dominants chez la plupart des mammifères, leur unique rôle est de percevoir la lumière dans des environnements très sombres. Leur fonction est saturée et ils ne sont donc pas opérants de jour ou dès que l'éclairage dépasse le seuil de la pénombre. Ce sont donc les cônes qui assurent la fonction visuelle la plus importante, et donc essentielle, permettant de percevoir les formes et les couleurs. Ils sont entièrement responsables de l'acuité visuelle. Chez les primates, les cônes sont d'ailleurs regroupés au centre de la rétine, la fovéa, qui est le point de fixation visuelle.

Les dégénérescences rétiniennes héréditaires sont des pathologies incurables entraînant la cécité. Ces maladies touchent 40 000 patients en France et plus d'un million dans le monde. La rétinopathie pigmentaire, qui est la forme la plus fréquente de ces pathologies, progresse en deux temps : une première phase correspond à la perte des bâtonnets qui meurent par apoptose, suivie de la mort des cônes qui ne sauraient survivre sans les bâtonnets. L'existence de ce lien entre les deux types de photorécepteurs est à l'origine de la stratégie thérapeutique sur laquelle nous travaillons. En effet, les mutations de 58 gènes différents sont responsables individuellement de la rétinopathie pigmentaire qui progresse d'une perte de la vision nocturne, peu handicapante, vers la cécité résultant de la perte de la vision centrale, celle des cônes. Nous avons identifié un des produits du gène *nucleoredoxin-like 1* (NXNL1) comme le facteur de survie produit et sécrété par les bâtonnets et nécessaire à la survie des cônes. De manière tout à fait originale, l'étude du mécanisme d'action de ce facteur de viabilité, nommé *rod-derived cone viability factor* (RdCVF), prévient la mort des cônes en stimulant leur métabolisme énergétique, énergie nécessaire au maintien d'une structure cellulaire du photorécepteur dans laquelle sont insérées les molécules qui captent la lumière, les opsines. RdCVF accélère l'entrée du glucose dans les cônes *via* une protéine réceptrice à leur surface, glucose qui est métabolisé par la glycolyse aérobie, une utilisation du glucose généralement réservée aux cellules se divisant rapidement comme les cellules cancéreuses (effet Warburg). La mort des bâtonnets, qui est le résultat direct de la mutation à l'origine de la maladie, entraîne une perte d'expression de RdCVF, une réduction de l'énergie disponible pour les cônes pour maintenir cette structure et donc pour maintenir la présence des opsines, conduisant à la cécité. Notre objectif est donc de rétablir l'expression de RdCVF par thérapie génique pour prévenir la perte de la vision centrale en maintenant la fonction des cônes.

Le gène *NXNL1* code aussi par épissage alternatif pour une deuxième protéine, la thiorédoxine *RdCVFL*. Les thiorédoxines sont des enzymes qui régulent l'homéostasie redox en réduisant les résidus cystéine oxydés des protéines. Ainsi, la thiorédoxine *RdCVFL* protège les bâtonnets contre le stress oxydatif provoqué par une exposition à une lumière intense. De manière tout aussi intéressante, *RdCVFL*, et non *RdCVF*, est exprimé par les cônes eux-mêmes. Son rôle dans les cônes est de prévenir les dommages causés par un apport trop important en oxygène. En effet, comme la circulation sanguine choroïdienne vers les photorécepteurs ne présente pas de mécanisme réduisant son débit en fonction de son utilisation, la perte des bâtonnets au cours de la pathologie réduit de manière conséquente la consommation d'oxygène de la rétine restante, d'où une hyperoxie qui atteint les cônes. C'est là que le rôle protecteur de *RdCVFL* contre le stress oxydatif semble essentiel pour maintenir en vie les cônes. Le gène *NXNL1* a donc deux rôles complémentaires attribués aux deux protéines produites par épissage alternatif : le facteur trophique *RdCVF* maintient la fonction des cônes par son action sur le métabolisme du glucose, tandis que la thiorédoxine *RdCVFL* prévient la mort des cônes en s'opposant à l'oxydation des résidus cystéines des protéines des cônes. L'utilisation du potentiel thérapeutique des deux produits du gène *NXNL1* devrait conduire à un traitement efficace de la rétinopathie pigmentaire indépendamment de la mutation à l'origine de la maladie.

Séminaire 4b – *Thioredoxin and glutaredoxin in redox signaling with focus on the nervous system*

Arne Holmgren

Thioredoxin (Trx), NADPH, thioredoxin reductase (TrxR) comprise a thioredoxin system and is present universally in living organisms. Most organisms also have a glutaredoxin system comprising glutathione (GSH), NADPH, glutathione reductase (GR) and glutaredoxin (Grx). Both systems were discovered in studies of how deoxyribonucleotides for DNA synthesis are formed *de novo* (1). The essential enzyme catalyzing this reaction is ribonucleotide reductase (RNR) and for each catalytic cycle Trx1 or Grx1 is required to reduce a disulfide in the active site of the enzyme. Mammalian Trx and TrxR are present in many isoforms with a large number of functions as disulfide reductases in control of cellular redox potential. The thioredoxin system is central in redox regulation via H_2O_2 or NO (2,3). Recent data on the autoregulation of human Trx1 in signal transduction by H_2O_2 and peroxiredoxins will be presented. A truncated form of Trx1 called Trx80 is formed upon secretion and is known to be a growth factor for monocytes leading to inflammation and a TH1 response. In contrast in the nervous system Trx80 is protective (4).

Cours 5 – Prothèses visuelles

Les prothèses visuelles visent, chez des patients rendus aveugles par dégénérescence des cellules photoréceptrices de la rétine, à restaurer une vision utile (lecture, mobilité), ce qui implique de recouvrer une capacité de détection de la lumière et une capacité de discrimination.

Compte tenu de la persistance, dans des affections comme la rétinopathie pigmentaire et peut-être la dégénérescence maculaire liée à l'âge, des neurones internes de la rétine et surtout de leur connexion au cerveau, la possibilité de

restaurer une sensation visuelle par stimulation électrique des circuits neuronaux restants a été envisagée de longue date.

Il y a une vingtaine d'années, il a été démontré par Mark Humayun que la stimulation électrique de la rétine permettait de déclencher des sensations lumineuses de type de phosphène, ce qui a permis, dans un premier temps, dans la lignée des travaux sur les implants cochléaires, de proposer la mise en place d'implants à résolution limitée, initialement 16 électrodes, puis plus récemment 50 à 60 électrodes afin de restaurer des sensations visuelles élémentaires.

Les systèmes utilisés comportent une caméra de détection des images, leur traitement informatique avec leur optimisation, la connexion à un émetteur, puis une antenne suturée sur l'œil reliée par un câble comportant une soixantaine de fibres ou plus à une puce épirétinienne. Ils ont permis chez un certain nombre de patients, lors d'essais cliniques pilotes, de démontrer la récupération de certaines fonctions visuelles comme la capacité de détection de certains objets, de trottoirs, de bords, de portes et éventuellement la lecture de caractères de grande taille voire de mots de longueur courte.

À partir de ces premiers travaux, de l'approbation de ces approches thérapeutiques par les autorités de santé et de leur début de remboursement, plusieurs approches visent aujourd'hui à optimiser les performances visuelles.

Il s'agit d'une part d'une augmentation du nombre d'électrodes pour les prothèses épirétiniennes, qui atteint aujourd'hui 150 électrodes, mais aussi d'approches sous-rétiniennes qui visent à stimuler directement les circuits internes de la rétine en sous-rétinien, site initial des photorécepteurs perdus par le patient.

Ces approches ont déjà été tentées et le seront prochainement de manière très innovante, à partir de technologies recourant à des photodiodes sous-rétiniennes sans fil. Elles pourraient permettre d'atteindre des acuités visuelles de l'ordre de $1/10^{\circ}$ et donc éventuellement de dépasser le seuil de la cécité légale.

Au décours de ces chirurgies aujourd'hui mieux maîtrisées, c'est la réhabilitation et la réappropriation par le patient des sensations visuelles obtenues qui devrait pouvoir lui permettre de retrouver, grâce à la plasticité du cortex, sinon une autonomie, au moins certaines capacités visuelles et donc un réapprentissage par le cerveau des informations qui sont produites par la voie visuelle en complément de celles qui étaient développées de manière palliative et compensatoire par le système auditif ou tactile en particulier.

Séminaire 5 – Vision prothétique

Serge Picaud

Les interfaces cerveau/machine ou prothèses neuronales ont pour objet de compenser un handicap ou pallier des processus neurodégénératifs. Il s'agit de dispositifs implantés activant des zones du système nerveux central à l'aide d'électrodes. Ainsi des prothèses auditives permettent à des patients sourds de suivre une conversation téléphonique, la stimulation haute fréquence supprime les mouvements involontaires dans la maladie de Parkinson. Ces succès ont motivé le développement de prothèses visuelles pour restaurer une vision utile chez des patients devenus aveugles. Le système visuel peut être ciblé à différents niveaux en fonction des pathologies ayant entraîné la cécité. Les résultats cliniques indiquent que le système visuel des patients aveugles est toujours fonctionnel et que ces

patients peuvent retrouver une certaine perception visuelle. Cependant, la notion d'image implique la perception d'un grand nombre de pixels (au minimum 600) pour atteindre des fonctions visuelles permettant la reconnaissance des visages, la locomotion autonome en environnement étranger et la lecture de textes. La production de tous ces pixels repose sur la stimulation par autant voire plus d'électrodes. Après un tour d'horizon des technologies actuellement proposées, la présentation aborde les nouvelles technologies innovantes développées dans ce domaine pour augmenter la résolution des dispositifs.

Cours 6 – Thérapies géniques

La thérapie génique a connu au cours des dernières années des progrès majeurs. En effet, dans la lignée des travaux de l'équipe d'Alain Fischer sur des syndromes d'immunodéficience de l'enfant et de l'approbation récente d'une thérapie en Europe dans le cadre d'une maladie métabolique, il apparaît possible de mettre en œuvre ces thérapeutiques dans un certain nombre d'affections. L'ophtalmologie a été pionnière dans ce domaine grâce à une excellente compréhension de la physiologie moléculaire de la rétine, d'une accessibilité du tissu, du caractère relativement limité de la zone d'injection et de la possibilité d'observer de manière précise et quasi quantitative les éventuels bénéfices thérapeutiques. Les vecteurs utilisés doivent cibler le tissu rétinien en fonction du type cellulaire que l'on cherche à atteindre mais aussi réguler l'expression à partir de promoteurs spécifiques et permettre de réduire de manière considérable les phénomènes immunitaires éventuellement induits par ces vecteurs.

De nombreux travaux ont été réalisés dans ce domaine et les essais de thérapie génique sont très nombreux avec sans doute à très court terme l'approbation de la première thérapie par thérapie génique au niveau oculaire à la suite des travaux de l'équipe de Jean Bennett à Philadelphie.

Le principal vecteur utilisé dans la rétine est le virus adéno-associé (AAV) mais les lentivirus sont eux aussi utilisés lorsqu'il s'agit d'administrer des protéines codées par des gènes de grande taille ne pouvant entrer dans un AAV.

La thérapie génique vise soit la correction génique, soit l'administration de protéines thérapeutiques à titre de facteur trophique, soit dans une approche récente l'administration de protéines sensibles à la lumière, technologie appelée optogénétique évoquée en séminaire et lors du colloque final.

En fonction du stade de la maladie, ces différentes approches peuvent être déclinées. La thérapie génique correctrice a porté jusqu'à présent principalement sur les affections récessives où il s'agissait de palier une perte de fonction. Il est indispensable de mettre en œuvre cette thérapeutique à un stade où les cellules photoréceptrices sont encore viables ce qui interdit de s'adresser, après la dégénérescence cellulaire, à des stades tardifs.

Dans la suite de travaux prometteurs chez le chien briard porteur de mutation sur le gène RPE65 impliqué dans le métabolisme de la vitamine A, des essais cliniques ont permis à des enfants et de jeunes adultes de récupérer certaines fonctions visuelles. Le succès probable d'une phase III récente devrait permettre l'enregistrement de cette première approche thérapeutique. Ce succès, qui se caractérise aussi par un effet favorable au niveau de la plasticité corticale, pourrait être appliqué à d'autres affections.

Le stade évolutif de la maladie représente un cap essentiel dans le ciblage de l'approche thérapeutique.

Nous avons récemment mis en œuvre une thérapie génique originale dans le cadre de la neuropathie optique de Leber, dans les suites des travaux de Marisol Corral-Debrinski à l'Institut de la Vision, qui a permis de démontrer qu'il était possible d'administrer en intra-vitréen, à des patients porteurs de cette atteinte mitochondriale du nerf optique, un gène codant pour une protéine de la chaîne mitochondriale, et de provoquer l'expression de cette protéine dans la mitochondrie. La sécurité de l'essai thérapeutique de phase Ib-IIa et les premiers éléments prometteurs d'efficacité conduisent à une phase III aujourd'hui en cours.

Cependant, dans la plupart des affections génétiques, le stade de la maladie auquel sont vus les patients ne permet pas toujours de traiter les cellules avant leur dégénérescence. Il est nécessaire, pour des raisons de sécurité et d'éthique, de concevoir les essais cliniques en plusieurs phases, la première visant essentiellement à démontrer la sécurité chez des patients à la vision faible afin de limiter les risques. La conception des essais, adaptative ou non, va permettre ensuite une escalade de dose et d'atteindre des stades moins avancés de la maladie au cours desquels il sera possible de démontrer un bénéfice thérapeutique à la fois fonctionnel et morphologique. Ces essais sont aujourd'hui en cours dans de très nombreuses affections et notre expérience, dans le cadre, d'une part de la maladie de Stargardt, d'autre part dans d'un des syndromes de Usher, est discutée pendant le cours.

Les contraintes des essais cliniques rendent relativement difficile l'extension de ces approches thérapeutiques à de très nombreux gènes. Cependant, plus de vingt essais sont en cours et sont considérés comme relativement prometteurs.

Une approche générique a été évoquée dans le cours 4 sur le facteur de survie des cônes. Sera évoquée dans le séminaire 6 l'optogénétique qui vise à restaurer certaines fonctionnalités visuelles.

Dans toutes ces affections l'évaluation du stade d'évolution de la maladie et du statut des photorécepteurs est essentielle (cf. cours 2 et cours 8).

Séminaire 6 – Optogénétique

Botond Roska

Au cours de ce séminaire sont décrits les travaux visant à une restauration de la fonction visuelle par thérapie génique recourant à l'administration au niveau des cellules rétinienne de protéines sensibles à la lumière appelées optogènes.

Les travaux ont porté successivement sur l'administration de ces protéines au niveau des photorécepteurs, des cellules bipolaires mais aussi des cellules ganglionnaires.

La première équipe ayant développé cette thérapie est celle de Zhuo-Hua Pan à Détroit il y a une dizaine d'années. En 2008, une tentative d'administration à des cellules bipolaires permettant une stimulation sélective d'une des voies de réponse à la lumière, la voie ON, a été réalisée par l'équipe de Botond Roska permettant d'obtenir des réponses physiologiques et comportementales structurées.

Puis, l'équipe de Botond Roska, en collaboration avec celles de l'Institut de la Vision, a démontré la possibilité d'administrer au niveau des cellules photoréceptrices restantes, appelées cônes dormants dont le segment externe a disparu, une pompe ionique hyperpolarisante appelée halorhodopsine, permettant une restauration de la

majorité des fonctions visuelles avec un codage à la fois spatial et temporel satisfaisant. Cette approche thérapeutique est transférée vers la clinique avec une optimisation actuelle des constructions et des protéines utilisées dans le cadre d'un partenariat entre ces équipes et une start-up.

En parallèle, de nouveaux travaux sur les cellules bipolaires ont été réalisés au sein de l'Institut de la Vision. En même temps, le ciblage des cellules ganglionnaires apparaît, du fait de l'accessibilité du tissu, une approche réaliste à court terme. Plusieurs travaux visent aujourd'hui à la stimulation de ces cellules par des channelrhodopsines ou par des optogènes optimisés pour absorber dans le spectre rouge. En effet, la quantité de lumière nécessaire pour la stimulation des optogènes est massive du fait de l'absence d'amplification du signal, du manque aussi d'une capacité d'adaptation aux changements de l'intensité lumineuse.

De ce fait, une stimulation externe par projection de lumière, en respectant les seuils de sécurité vers la rétine réactivée, est nécessaire, ce qui permet aujourd'hui la mise en œuvre de techniques de stimulation codant l'information lumineuse en fonction d'un code neural appris par les différentes méthodes et techniques d'exploration de la rétine au niveau physiologique décrites dans le premier cours et le premier séminaire.

Ces approches sont donc aujourd'hui en transfert vers la clinique avec une convergence de biothérapies, de technologies de l'information ainsi que d'optoélectronique. Les premiers essais cliniques sont imminents.

Cours 7 – Restauration de la vision par des approches de thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire est aujourd'hui envisagée dans de très nombreuses affections de la rétine ou du nerf optique ayant aboutie à une perte cellulaire considérée comme irréversible. Il s'agit notamment du glaucome et de la nécessité de régénérer les cellules ganglionnaires mais aussi et surtout de la perte des photorécepteurs et de l'épithélium pigmentaire dans le cadre des rétinopathies pigmentaires et dans le cadre des dégénérescences maculaires liées à l'âge.

Ce qui est visé dans ces affections est le remplacement des cellules photoréceptrices et celles de l'épithélium pigmentaire. La réparation endogène avait été envisagée depuis une quinzaine d'années à partir de la démonstration d'abord chez le poisson et le poulet d'une prolifération à partir de la zone marginale, et de travaux préliminaires en 2000 permettant d'espérer que ces approches puissent éventuellement s'appliquer aux rétines de mammifères. Cette stratégie n'a pas encore confirmé les promesses évoquées alors. Une autre approche vise à utiliser les cellules gliales de Muller pour régénérer les cellules rétinienne, approche qui s'est avérée valide chez le poisson et le poulet, mais qui reste encore à démontrer dans sa pertinence chez les mammifères.

La réparation des cellules photoréceptrices ou leur remplacement ainsi que celle de l'épithélium pigmentaire reposent aujourd'hui principalement sur des stratégies recourant à l'administration de cellules exogènes. Deux sources sont aujourd'hui envisagées principalement, les cellules souches embryonnaires et les cellules reprogrammées pluripotentes induites.

En ce qui concerne les cellules embryonnaires, il a été démontré par l'équipe de Robin Ali à Londres qu'une restauration fonctionnelle partielle pouvait être obtenue après administration de progéniteurs de photorécepteurs à un stade très précis du développement de la rétine. Ces travaux ont cependant récemment été mis en

question du fait de la démonstration de l'existence d'une fusion cellulaire avec les cellules de l'hôte tout au moins d'un transfert de matériel entre cellules greffées et cellules de l'hôte, qui donne à la signification des marqueurs observés une valeur discutable. Cependant, les fonctionnalités observées, quelles qu'en soit l'origine, pourraient permettre d'ouvrir une approche thérapeutique visant à administrer les cellules à un stade précis de leur développement permettant leur intégration et/ou ce type d'échange avec les cellules de l'hôte.

En parallèle, les connaissances sur le développement du système visuel et la programmation à partir de différents facteurs de transcription permettent de mieux comprendre le développement des tissus rétiens, la connectivité et donc éventuellement de pouvoir les maîtriser. Il reste cependant à obtenir suffisamment de cellules intégrées pour une restauration fonctionnelle valable et cet enjeu n'est pas encore atteint aujourd'hui.

La possibilité d'obtenir à partir des cellules du patient lui-même par reprogrammation des cellules pluripotentes induites est aujourd'hui au cœur d'approches thérapeutiques prometteuses. Dans un premier temps, c'est le remplacement de l'épithélium pigmentaire qui a été tenté dans le cadre de la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Certaines équipes avaient recouru à des cellules embryonnaires administrées en suspension, d'autres travaux visent à administrer des monocouches sur un substrat, ce qui est en particulier le cas d'un des projets que nous menons (avec I-Stem) avec une perspective d'essai thérapeutique à environ un an et demi. En parallèle, un essai thérapeutique est entrepris au Japon dans le cadre de la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Le risque de transformation des cellules greffées conduit de plus en plus à préférer la réalisation de banques haplotypées de cellules pluripotentes induites à partir de « super »-donneurs aux cellules parfaitement caractérisées, limitant considérablement le risque de transformation maligne mais permettant aussi de s'assurer qu'aucun des facteurs connus de prédisposition à la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou à d'autres affections monogéniques ne soit présent chez ces donneurs.

Si ces perspectives sont aujourd'hui très prometteuses, il reste que la maîtrise des conditions de production de ces cellules et leur industrialisation présentera des enjeux complexes, avec la sécurité de ces développements.

Séminaire 7 – *Developing gene and stem cell therapies for retinal diseases*

Robert MacLaren

Retinal diseases remain the most common causes of blindness in the developed world. These include retinitis pigmentosa that affects the younger age group, diabetic maculopathy in middle age and age-related macular degeneration in the elderly. At the centre of the irreversible nature of blindness in these diseases is loss of the light sensitive photoreceptor cells that line the retina. Replacing these cells poses the same challenges as replacing neurons elsewhere in the central nervous system. One property that is however easier to regenerate is the synaptic connection, because unlike virtually all other neurons, the photoreceptor cell needs only to connect in one direction because light rays bring the afferent stimulus. Hence photoreceptor transplantation may be the most amenable type of neuronal repair, using stem cells or other donor tissues. Furthermore we know from results of the subretinal implant developed by Eberhart Zrenner in Tübingen that patients with no light perception

can see again with a subretinal electronic stimulus many years after sight loss. Progress in electronic technologies and stem cells therefore provide hope for many people affected by retinal diseases.

Cours 8 – La restauration visuelle en clinique : le temps des essais

Il est indispensable de repositionner la perspective des essais thérapeutiques dans un continuum entre la recherche en laboratoire, le développement préclinique souvent réalisé dans le cadre de l'industrie, et surtout la relation patients-soignants. Il existe en effet un ensemble de questions qui doivent être abordées de façon séquentielle afin de pouvoir à terme proposer des essais thérapeutiques ciblés sur des populations limitées mais capables de démontrer l'efficacité de ces thérapeutiques, en particulier dans le cadre de maladies rares.

Dans le cadre du cours ont été évoqués successivement plusieurs essais en cours ou à venir, comme le développement d'essais thérapeutiques sur la neuropathie optique de Leber, aujourd'hui en phase III, réalisés dans le cadre de travaux initiés et menés au sein de l'Institut de la Vision et repris par un partenaire industriel.

La problématique liée à la production des différents produits thérapeutiques, en particulier en ce qui concerne les vecteurs de thérapie génique, représente un enjeu majeur du développement des essais cliniques, et fait aujourd'hui l'objet de très nombreux efforts au niveau industriel mais aussi d'une vigilance toute particulière des agences de régulation, avec la mise en place dans de très nombreux pays de plusieurs entités publiques contrôlant ces essais cliniques.

Le facteur crucial dans le développement des essais cliniques est d'adapter l'essai en fonction du stade de la maladie. Nous avons insisté à de nombreuses reprises sur le fait que, aux stades initiaux des essais, ceux-ci doivent être réalisés chez des patients présentant des stades très évolués de la maladie, stades auxquels l'espoir thérapeutique est limité et la possibilité de cibler les cellules d'étude relativement faible.

Les patients sont soumis à une batterie de tests à la fois morphologiques et fonctionnels, qu'il s'agisse de l'acuité visuelle, du champ visuel, de la micropérimétrie, d'études de la vision des couleurs, de la vision des contrastes, de la pupillométrie, mais aussi de l'exploration morphologique, rétinophotographie, tomographie par cohérence optique, optique adaptative, imagerie par autofluorescence, de questionnaires de qualité de vie. L'ensemble de ces éléments vise à évaluer de manière quantitative et longitudinale l'évolution de la maladie et l'impact des thérapeutiques. Une modélisation de la perte cellulaire au cours de la maladie doit mettre en perspective des suivis de cohortes. Celles-ci se sont avérées déficientes jusqu'à présent, conduisant au déploiement de très nombreuses initiatives de réalisation d'histoire naturelle de la maladie, indispensables à l'interprétation des futurs essais cliniques et à leur conception.

Tout se centre aujourd'hui sur l'analyse de paramètres morphologiques au niveau des photorécepteurs et de leur fonctionnalité. Un des éléments majeurs dans les essais est aussi la détermination de l'impact dans la vie quotidienne avec ce qui est appelé aujourd'hui les « patients-reported outcomes », c'est à dire de marqueurs d'efficacité rapportés par les patients eux-mêmes, conjointement à la démonstration des bénéfices dans la vie quotidienne.

Des plateformes d'étude de la mobilité sont aujourd'hui mises en œuvre qui regroupent différentes compétences à la fois clinique, mais aussi sociologiques, anthropologiques, de spécialistes de la locomotion et de l'ergonomie.

L'ensemble devrait permettre la réalisation d'essais cliniques à la fois plus simples, plus structurés et surtout à même de démontrer, sur un groupe de patients limité dans une durée de temps aussi courte que possible, un effet thérapeutique incontestable capable d'emmener à l'enregistrement et à l'administration de ces différentes approches thérapeutiques.

À terme, l'intégration dans le champ d'expérience sensorielle du patient, illustrée par la restauration fonctionnelle chez des patients ayant perdu leur vision de longue date, voire dès la naissance, doit être envisagée dans une perspective de science cognitive et philosophique, comme cela a été évoqué dans le cadre de la leçon inaugurale à propos du problème de Molineux. La plasticité cérébrale restera l'un des enjeux majeurs de la restauration fonctionnelle dans les décennies à venir.

Séminaire 8a – Du point de vue de la non-vue

Jacques Semelin

Jacques Semelin retrace dans le séminaire les principales étapes de cette évolution et de son combat à travers lequel il s'est efforcé de résister au handicap à partir de son cerveau. Il soulignera aussi combien les innovations technologiques représentent aujourd'hui une aide inestimable à l'intégration sociale et professionnelle des déficients visuels.

Séminaire 8b – À propos des synesthésies

Avinoam B. Safran

Le perçu visuel n'est pas le reflet fidèle d'une image projetée sur la rétine. Parfois même, il trouve son origine dans l'activation de systèmes sensoriels autres que celui de la vision, ou dans des mécanismes cérébraux traitant de processus cognitifs ou émotionnels. Ce sont les synesthésies visuelles, induites par exemple par des sons ou des odeurs, par un calcul arithmétique ou encore un état thymique. Elles sont essentiellement de deux sortes : les unes sont constitutionnelles, habituellement génétiques, qui surviennent chez quelque 3 % de la population, les autres étant acquises, à la suite d'une affection nerveuse, communément toxique ou par désafférentation sensorielle, une perte de vision notamment.

L'impact des synesthésies visuelles est considérable. Elles ont influé sur le cours de l'histoire des idées, de l'art, et ont nourri notre réflexion sur la conscience. Certaines ont marqué le vécu des personnes privées de vision. Ces phénomènes perceptifs ouvrent une intéressante fenêtre sur les interactions entre les mécanismes cérébraux traitant les informations parvenues de notre entourage ou élaborées par notre organisme. Les techniques nouvelles d'imagerie structurelle et fonctionnelle du cerveau occupent une place centrale dans leur exploration.

PUBLICATIONS

AÏT-ALI N., FRIDLICH R., MILLET-PUÉL G., CLÉRIN E., DELALANDE F., JAILLARD C., BLOND F., PERROCHEAU L., REICHMAN S., BYRNE L.C., OLIVIER-BANDINI A., BELLALOU J., MOYSE E., BOUILLAUD F., NICOL X., DALKARA D., VAN DORSSELAER A., SAHEL J.-A. et LÉVEILLARD T., « Rod-derived cone viability factor promotes cone survival by stimulating aerobic glycolysis », *Cell*, vol. 161, n° 4, 2015, p. 817-832, DOI : 10.1016/j.cell.2015.03.023.

BENDALI A., ROUSSEAU L., LISSORGUES G., SCORSONE E., DJILAS M., DÉGARDIN J., DUBUS E., FOUQUET S., BENOSMAN R., BERGONZO P., SAHEL J.-A. et PICAUD S., « Synthetic 3D diamond-based electrodes for flexible retinal neuroprostheses: Model, production and in vivo biocompatibility », *Biomaterials*, vol. 67, 2015, p. 73-83, DOI : 10.1016/j.biomaterials.2015.07.018.

BERGER A., LORAIN S., JOSÉPHINE C., DESROSIERS M., PECCATE C., VOIT T., GARCIA L., SAHEL J.-A. et BEMELMANS A.-P., « Repair of rhodopsin mRNA by spliceosome-mediated RNA trans-splicing: a new approach for autosomal dominant retinitis pigmentosa », *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, vol. 23, n° 5, 2015, p. 918-930, DOI : 10.1038/mt.2015.11.

LÉVEILLARD T. et SAHEL J.-A., « Metabolic and redox signaling in the retina », *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2016, DOI : 10.1007/s00018-016-2318-7.

SAHEL J.-A., *Rapprocher les regards. La restauration visuelle en perspectives*, Paris, Collège de France / Fayard, coll. « Leçons Inaugurales du Collège de France », n° 261, 2016.

SCHOLL H.P.N., STRAUSS R.W., SINGH M.S., DALKARA D., ROSKA B., PICAUD S. et SAHEL J.-A., « Emerging therapies for inherited retinal degeneration », *Science Translational Medicine*, vol. 8, n° 368, 2016, 368rv6-368rv6, DOI : 10.1126/scitranslmed.aaf2838.